

*В. Л. КУЗНЕЦОВА, А. Г. СОЛОВЬЕВА, С. П. ПЕРЕТЯГИН,
М. В. ПРЕСНЯКОВА, А. А. МАРТУСЕВИЧ, И. Г. СТРЕЛКОВА*

ИЗМЕНЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ОКСИДА АЗОТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Отделение экспериментальной медицины, лаборатория биохимии,
ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России,
Россия, 603155, г. Нижний Новгород, Верхне-Волжская набережная, 18;
тел. 8 (831) 436-25-31. E-mail: sannag5@mail.ru*

Целью работы явилось изучение основных биохимических показателей сыворотки крови у экспериментальных животных при субхроническом воздействии оксида азота (NO). Эксперименты проведены на крысах линии Wistar. Животных разделили на 4 группы: контрольную (здоровые крысы) и три опытные, в которых животные в течение 30 дней получали ингаляции NO в концентрации 20, 50 и 100 ppm. Газовую смесь синтезировали с помощью аппарата для генерации NO, разработанного в РФЯЦ – ВНИИЭФ (г. Саров). Определение биохимических показателей сыворотки крови проводили на анализаторе «ILAB 650» (Италия, США, Япония). Показано, что субхроническое ингаляционно-наружное воздействие NO во всех исследуемых концентрациях способствует повышению содержания глюкозы, активности аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы.

Ключевые слова: оксид азота, биохимические показатели, сыворотка.

**V. L. KUZNETSOVA, A. G. SOLOVEVA, S. P. PERETYAGIN, M. V. PRESNYAKOVA,
A. A. MARTUSEVICH, I. G. STRELKOVA**

CHANGES OF BIOCHEMICAL PARAMETERS OF BLOOD SERUM IN SUBCHRONIC INFLUENCE
OF NITRIC OXIDE IN THE EXPERIMENT

*Federal state budgetary institution «Privolzhsky federal research medical centre»
of the Ministry of health of the Russian Federation,
Russia, 603155, Nizhny Novgorod, Verkhne-Volzhskaya embankment, 18;
tel. 8 (831) 436-25-31 E-mail: sannag5@mail.ru*

The aim of this work was to study basic biochemical parameters of blood serum in experimental animals in subchronic influence of nitric oxide (NO). The experiments were performed on Wistar rats. The animals were divided into 4 groups: control (intact healthy rats) and three experimental, in which the animals within 30 days were receiving the inhalation of gaseous NO at a concentration of 20, 50 and 100 ppm. The gas mixture was synthesized by the apparatus for generating nitric oxide developed at Sarov. Determination of biochemical parameters of blood serum was performed on an automatic analyzer «ILAB 650» (Italy, USA, Japan). It was shown that subchronic inhalation of NO in all the studied concentrations contribute to the increase of glucose, the activity of aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase.

Key words: nitric oxide, biochemical parameters, serum.

Введение

Важную роль при многих патологических состояниях играет окислительный стресс, сопровождающийся дисбалансом про- и антиоксидантных систем организма. Коррекция нарушений окислительного метаболизма является одной из стратегий лечения пациентов. В этом плане привлекает внимание применение активных форм азота. Оксид азота (NO) оказывает важное действие на многочисленные физиологические процессы в организме. Разнообразие эффектов оксида азота обусловлено образованием физиологически активных метаболитов NO и его взаимодействием

с различными молекулярными мишенями, а также носит дозозависимый характер [3, 5, 6, 8, 10]. Активные радикалы азота активируют или ингибируют белки ионных каналов, киназы, каспазы, металлопротеиназы, метилтрансферазы, фосфодиэстеразы. Оксид азота, вырабатываемый в гепатоцитах, защищает эти клетки от действия ряда токсичных веществ. При поражении гепатотоксичными окислителями NO может действовать как антиоксидант, сохраняя клеточные запасы восстановленного глутатиона [4, 7].

В условиях нарастающего оксидативного стресса наблюдается снижение активности

эндотелиальной NO-синтазы [4]. Это вызывает необходимость использовать доноры оксида азота в терапевтических целях.

Установлено, что оксид азота способствует более тяжелому течению некоторых острых респираторных вирусных заболеваний. В очаге воспаления накапливаются монооксид азота и супероксид-анион, которые подвергаются быстрому радикал-радикальному взаимодействию с образованием медиатора окислительного клеточного повреждения – пероксинитрита. Пероксинитрит вызывает повреждение сосудистого эндотелия, увеличивает агрегацию тромбоцитов, участвует в процессах эндотоксемии, способствует повреждению тканей и развитию полиорганной недостаточности [4, 8, 11]. Многие аспекты NO еще до конца не изучены и зачастую противоречивы. Выяснение механизма действия оксида азота заслуживает пристального внимания и дальнейшего исследования.

В Российском федеральном ядерном центре, Всероссийском научно-исследовательском институте экспериментальной физики (РФЯЦ – ВНИИЭФ, г. Саров) был разработан экспериментальный аппарат для синтеза газовой смеси оксида азота [1]. Возможный диапазон вырабатываемой им концентрации NO составляет от 20 до 200 ppm. Огромный интерес представляет использование данного прибора в медицинской практике.

Целью исследования явилось изучение основных биохимических показателей сыворотки крови у экспериментальных животных, подвергнутых субхроническому ингаляционно-наружному воздействию оксидом азота в течение 30 дней.

Материалы и методы

Эксперимент проведен на белых крысах-самцах линии Wistar. Условия работы с животными соответствовали правилам Европейской конвенции ET/S 129, 1986 и директивам 86/609 ESC. Из 23 крыс массой 200–250 г сформировали 4 группы животных: первая состояла из интактных здоровых животных (контроль, n=8), в трёх других экспериментальных группах (по 5 особей в каждой) крысы были подвергнуты воздействию газообразного NO разной концентрации (20, 50 и 100 ppm). Синтез газовой смеси производили с помощью экспериментального аппарата для генерации оксида азота, разработанного в РФЯЦ – ВНИИЭФ. Для проведения ингаляционно-наружного воздействия оксидом азота животных помещали в эксикатор, в котором осуществляли подачу и отведение газовых смесей. Процедуру осуществляли ежедневно в течение 30 дней, продолжительность 10 минут. Крыс выводили из эксперимента на 30-е сутки путем декапитации под комбинированным наркозом (золетил+ксила).

Определение основных биохимических показателей сыворотки крови (глюкозы, общего билирубина, мочевины, мочевой кислоты, креатинина, общего белка, альбуминов, общего холестерина, аспартатаминотрансферазы (АСАТ), аланинаминотрансферазы (АЛАТ), щелочной фосфатазы [ЩФ]) проводили на автоматическом анализаторе «LAB 650» (Италия, США, Япония).

Результаты исследований обрабатывали с использованием программы «Statistica 6.0» («StatSoft, Inc.»). Значимость различий между показателями определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведённого исследования установлено, что в сыворотке крови крыс, подвергшихся влиянию газообразного NO, концентрация глюкозы оказалась статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой (табл. 1). Известно, что, с одной стороны, оксид азота замедляет распад глюкозы, ингибируя глицеральдегидфосфатдегидрогеназу [13]. С другой стороны, газообразный NO, как фактор внешней среды, может активировать гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальную систему, под воздействием которой стимулируется выработка глюкокортикоидов. Они оказывают множество эффектов, влияя на углеводный, жировой и белковый обмен, способствуя мобилизации энергетических ресурсов. Основное действие глюкокортикоидов в сфере углеводного обмена заключается в стимуляции печеночного глюконеогенеза с увеличением образования глюкозы. Конечным итогом является развитие гипергликемии [2, 12].

Выявлено, что у крыс, получавших субхроническое ингаляционно-наружное воздействие газообразного NO во всех исследуемых концентрациях, повышена активность аспартатаминотрансферазы, в то время как активность АЛАТ статистически достоверно не изменялась (табл. 2). Известно, что при глюконеогенезе образование глюкозы происходит из продуктов белкового и жирового обмена. Вероятно, наблюдаемое повышение активности АСАТ связано с тем, что она по сравнению с аланинаминотрансферазой более интенсивно используется в синтезе глюкозы из аминокислот [6].

Обнаружено, что у крыс, подвергшихся воздействию газообразного NO, содержание альбуминов в сыворотке крови статистически достоверно ниже, чем в контрольной группе. Альбумины выполняют резервную функцию, так как хранят запасы аминокислот для жизнедеятельности организма. Поэтому они в первую очередь расходуются для глюконеогенеза [9].

Изменение биохимических показателей сыворотки крови при хроническом воздействии NO

Анализируемые показатели	Контроль, n=8	20 ppm NO, n=5	50 ppm NO, n=5	100 ppm NO, n=5
	1	2	3	4
Глюкоза, ммоль/л	13,3 12,00–16,65	20,2 17,10–20,40 $p_1 = 0,048$	20,3 19,80–20,50 $p_2 = 0,012$ $p_4 = 0,700$	19,2 18,50–20,30 $p_3 = 0,024$ $p_5 = 1,000$ $p_6 = 0,200$
Мочевина, ммоль/л	5,05 4,05–5,85	6,00 4,80–6,70 $p_1 = 0,194$	6,50 5,00–7,20 $p_2 = 0,133$ $p_4 = 0,700$	5,20 5,20–5,70 $p_3 = 0,776$ $p_5 = 0,700$ $p_6 = 0,700$
Мочевая кислота, мкмоль/л	60,0 51,00–70,00	61,0 59,00–118,0 $p_1 = 0,383$	56,0 56,00–78,00 $p_2 = 0,667$ $p_4 = 0,400$	73,0 62,00–84,00 $p_3 = 0,117$ $p_5 = 0,700$ $p_6 = 0,400$
Креатинин, мкмоль/л	66,85 64,90–68,65	66,30 64,30–78,40 $p_1 = 0,921$	66,80 64,30–68,40 $p_2 = 0,921$ $p_4 = 1,000$	65,20 65,10–65,30 $p_3 = 0,279$ $p_5 = 0,700$ $p_6 = 0,700$
Общий билирубин, мкмоль/л	1,63 1,570–1,830	1,89 1,370–1,900 $p_1 = 0,381$	1,43 1,190–1,540 $p_2 = 0,167$ $p_4 = 0,400$	2,10 1,660–2,300 $p_3 = 0,167$ $p_5 = 0,400$ $p_6 = 0,100$
Общий холестерол, ммоль/л	1,55 1,350–1,700	1,40 1,200–1,500 $p_1 = 0,279$	1,70 1,400–2,000 $p_2 = 0,497$ $p_4 = 0,200$	1,70 1,300–2,100 $p_3 = 0,776$ $p_5 = 0,400$ $p_6 = 1,000$

Примечание: n – количество наблюдений; * – медиана; ** – квартильный размах; p_1 – достоверность различия анализируемых параметров в графах 1 и 2, p_2 – в графах 1 и 3, p_3 – в графах 1 и 4, p_4 – в графах 2 и 3, p_5 – в графах 2 и 4, p_6 – в графах 3 и 4.

Известно, что повышение концентрации глюкокортикоидов в крови усиливает действие адреналина на ткани, способствуя устойчивости организма к стрессу. Адреналин активизирует процессы гликогенолиза [10]. В ходе эксперимента установлено, что у крыс при ингаляции оксида азота наблюдается повышение активности ЩФ по сравнению с контрольной группой. Щелочная фосфатаза является неспецифическим ферментом, который отщепляет фосфорно-кислый остаток от любых соединений, в том числе от гексозофосфатов, содержание которых повышается в тканях при активации гликогенолиза [6].

В ходе эксперимента не было выявлено статистически значимых отличий в показателях общего белка, мочевины, общего билирубина, креатинина, общего холестерина, мочевой кислоты и активности аланинаминотрансферазы у крыс, подвергнутых субхроническому ингаляционно-наружному воздействию газообразным NO, по сравнению со значениями животных контрольной группы.

Между опытными группами, получавшими ингаляции NO различной концентрации, статистически достоверных изменений по анализируемым показателям сыворотки крови не

Изменение показателей белкового обмена при хроническом воздействии NO

Анализируемые показатели	Контроль, n=8	20 ppm NO, n=5	50 ppm NO, n=5	100 ppm NO, n=5
	1	2	3	4
Общий белок, г/л	63,8* 61,10–68,55**	63,3 59,10–64,30 $p_1 = 0,497$	58,0 57,70–63,10 $p_2 = 0,133$ $p_4 = 0,200$	61,1 59,50–62,20 $p_3 = 0,194$ $p_5 = 0,700$ $p_6 = 0,700$
Альбумины, г/л	23,9 22,70–25,95	21,3 18,90–22,10 $p_1 = 0,024$	21,9 20,0–22,40 $p_2 = 0,048$ $p_4 = 0,700$	24,1 20,70–24,90 $p_3 = 0,630$ $p_5 = 0,400$ $p_6 = 0,400$
Глобулины, г/л	39,8 37,30–43,60	41,2 37,70–45,40 $p_1 = 0,497$	37,7 35,60–41,20 $p_2 = 0,497$ $p_4 = 0,400$	37,3 35,40–39,40 $p_3 = 0,279$ $p_5 = 0,200$ $p_6 = 0,700$
Аспаратаминотрансфераза, ед./л	157,1 121,9–169,8	208,2 187,8–261,1 $p_1 = 0,017$	278,3 212,5–323,8 $p_2 = 0,017$ $p_4 = 0,200$	237,2 203,1–299,6 $p_3 = 0,017$ $p_5 = 0,700$ $p_6 = 0,700$
Аланинаминотрансфераза, ед./л	72,7 59,80–85,55	57,7 44,00–64,10 $p_1 = 0,194$	80,9 64,20–121,90 $p_2 = 0,376$ $p_4 = 0,100$	70,7 68,60–187,50 $p_3 = 0,497$ $p_5 = 0,100$ $p_6 = 1,000$
Щелочная фосфатаза, ед./л	192 171,5–237,5	331 228,0–429,0 $p_1 = 0,048$	519 367,0–544,0 $p_2 = 0,012$ $p_4 = 0,200$	535 436,0–555,0 $p_3 = 0,012$ $p_5 = 0,100$ $p_6 = 0,700$

Примечание: n – количество наблюдений; * – медиана; ** – квартильный размах; p_1 – достоверность различия анализируемых параметров в графах 1 и 2, p_2 – в графах 1 и 3, p_3 – в графах 1 и 4, p_4 – в графах 2 и 3, p_5 – в графах 2 и 4, p_6 – в графах 3 и 4.

обнаружено, что свидетельствует о не зависимости от дозы характере воздействия оксида азота в течение 30 суток.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что субхроническое ингаляционно-наружное воздействие NO (в дозе 20, 50 и 100 ppm) не вызывает изменения концентрации таких показателей крови, как мочевина, креатинин, мочевая кислота, общий билирубин, активность аланинаминотрансферазы, что свидетельствует об отсутствии повреждающего действия оксида азота на ткани печени и почек, участвующих в детоксикации организма.

С другой стороны, под влиянием NO на протяжении 30 суток выявлены повышение концентрации глюкозы, активности аспаратаминотрансферазы и щелочной фосфатазы, а также снижение содержания альбуминов в сыворотке крови экспериментальных животных, что указывает на стимулирующее влияние оксида азота, заключающееся в мобилизации энергетических ресурсов организма в результате активации процессов глюконеогенеза и гликогенолиза. Для более полной картины понимания механизмов воздействия оксида азота на организм и его значимости в терапевтической практике необходимо дальнейшее, более глубокое и детальное исследование.

ЛИТЕРАТУРА

1. Буранов С. Н., Карелин В. И., Селемир В. Д., Ширшин А. С. Устройство для получения окиси азота. Пат. РФ 2553290. Опубл. 10. 06. 2015.
2. Гриневиц В. В., Волкова О. В., Акмаев И. Г. Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в системе: гипоталамус – гипофиз – кора надпочечников при воспалении // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 5. – С. 10–14.
3. Кузнецова В. Л., Соловьева А. Г. Оксид азота: свойства, биологическая роль, механизмы действия // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. URL: <http://www.science-education.ru> (дата обращения: 07. 08. 2015).
4. Малахов В. А., Завгородняя А. Н., Лычко В. С., Джанелидзе Т. Т., Волох Ф. А. Проблема оксида азота в неврологии: Монография. – Суми: Издавництво СумДПУ им. А. С. Макаренка, 2009. – 242 с.
5. Полетаев А. Б., Морозов С. Г., Ковалев И. В. Регуляторная метасистема. Иммунонейроэндокринная регуляция гомеостаза. – М.: Медицина, 2002. – 168 с.
6. Рослый И. М., Водолажская М. Г. Правила чтения биохимического анализа: Руководство для врача. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 96 с.
7. Рябов Г. А., Азизов Ю. М. Роль оксида азота как регулятора клеточных процессов при формировании полиорганной недостаточности // Анестезиология и реаниматология. – 2001. – № 1. – С. 8–13.
8. Селиашвили Р. И., Шубич М. Г., Карпюк В. Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии // Астма. – 2001. – Т. 2. № 2. – С. 5–14.
9. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – 3-е изд. – М.: медпресс-информ, 2009. – 896 с.
10. Хиггинс К. Расшифровка клинических лабораторных анализов / Под ред. проф. В. Л. Эмануэля. – 3-е изд., испр. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. – 376 с.
11. Черный В. И., Нестеренко А. Н. Нарушения иммунитета при критических состояниях: Особенности диагностики // Внутренняя медицина. – 2007. – Т. 3. № 3. URL: <http://www.mif-ua.com/archive/article/414> (дата обращения: 29. 06. 2015).
12. Aguilera G. Regulation of pituitary ACTH secretion during chronic stress // Front. neuroendocrinol. – 1994. – V. 15. – P. 321–350.
13. NO (окись азота): биология. База знаний по биологии человека. – URL: <http://humbio.ru/humbio/har/0041adc7.htm#0041cf0a.htm> (дата обращения: 15. 06. 2015).

Поступила 29.10.2015

А. Н. КУРЗАНОВ¹, Н. В. ЗАБОЛОТСКИХ¹, А. М. МАНУЙЛОВ²

КЛИНИКО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ РЕЗЕРВОВ ОРГАНИЗМА

¹Кафедра нервных болезней и нейрохирургии с курсом нервных болезней и нейрохирургии и
²кафедра хирургии № 2 ФПК и ППС ГБОУ ВПО «Кубанский государственный
медицинский университет» Министерства здравоохранения России,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. 8 (861) 268-10-84. E-mail: kurzanov@mail.ru

В статье проанализированы существующие представления о функциональных резервах организма человека. Констатировано, что развитие методологии диагностики функциональных резервов организма, а также состояний, пограничных между здоровьем и болезнью, – важнейшее научное направление клинической физиологии и восстановительной медицины. Приведены данные о современных подходах к оценке функциональных резервов и регуляторно-адаптивных возможностей организма.

Ключевые слова: функциональные резервы организма (ФРО), адаптивные возможности, клинико-физиологическая диагностика ФРО.

A. N. KURZANOV¹, N. V. ZABOLOTSKIY¹, A. M. MANUILOV²

CLINICAL AND PHYSIOLOGICAL ASPECTS OF FUNCTIONAL BODY RESERVES DIAGNOSTICS

¹Department of nervous diseases and neurosurgery with the course
of nervous diseases and neurosurgery and
²department of surgery № 2 Kuban state medical university Ministry of health of Russia,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedina str. 4; tel. 8 (861) 268-10-84. E-mail: kurzanov@mail.ru

Existing conceptions concerning functional body reserves have been analyzed in the article. The development of the methodology for functional body reserves diagnostics as well as the study of borderlines between being healthy and being ill have proved to be the most important lines of scientific investigation for clinical physiology and rehabilitation medicine.